

Г. Л. Антоняк, В. В. Снітинський, Р. Я. Іскра, Н. О. Бабич

Вплив гідрокортизону на деякі ланки метаболізму в міелоїдних клітинах і лейкоцитах

Исследовали влияние гидрокортизона на активность ферментов энергетического обмена, протеолиза и антиоксидантной системы в миелоидных клетках костного мозга, нейтрофильных гранулоцитах и лимфоцитах крови 7–10-суточных поросят. Установлено, что после введения животным гормона в дозе 40 мг/кг через каждые 12 ч на протяжении 3 сут в исследуемых клетках снижается интенсивность начальных стадий гликолиза и пентозофосфатного пути, активность митохондриальной цитохром с-оксидазы и ферментов антиоксидантной системы. Такими эффектами гидрокортизона на внутриклеточный метаболизм может в значительной степени обуславливаться ингибирующее влияние гормона на функциональную активность миелоидных клеток и циркулирующих лейкоцитов.

Вступ

Процес гемопоезу в організмі людини та тварин перебуває під контролем багатьох чинників, зокрема гормональних [9]. Вплив гормонів на проліферацію та диференціацію клітин кровотворної тканини, а також на функціональну активність зрілих клітинних елементів крові в основному детермінується наявністю в клітинах специфічних рецепторів цих біорегуляторів [20, 33]. Згідно з даними літератури та результатами попередніх наших досліджень, гормональна ситуація в організмі новонароджених тварин, зокрема високий вміст гормонів кори надниркових залоз, що підтримується в плазмі протягом перших діб після народження [5, 11, 26], значною мірою зумовлює характер лейкопоезу та метаболізму в клітинах крові в неонатальному періоді розвитку [2, 29]. Разом з тим доведено, що глюкокортикоїди виявляють різноспрямований вплив на процеси гранулоцито- та лімфоцитопоезу [16, 17, 22]. Так, у високих дозах ці гормони, з одного боку, індукують процес диференціації міелоїдних клітин до зрілих гранулоцитів *in vivo* [16], а з іншого – стимулюють експресію β -адренергічних рецепторів у лімфоцитах, що створює умови для посилення впливу катехоламінів на метаболізм цих клітин [17, 27]. Відомо, що при дії високих доз гідрокортизону змінюється вміст клітинних популяцій у кістковому мозку та крові свиней.

Метою нашого дослідження було вивчення змін активності ферментів енергетичного обміну, протеолізу й антиоксидантної системи в міелокаріоцитах кісткового мозку, нейтрофільних гранулоцитах і лімфоцитах крові поросят після ін'єкцій гідрокортизону для з'ясування окремих ланок механізму впливу глюкокортикоїдів на інтенсивність міело- та лімфопоезу і функціональну активність зрілих лейкоцитів.

Методика

Дослідження проводили на двох групах поросят 7–10-добово віку по 5 тварин у кожній. Тваринам дослідної групи, починаючи з 7 діб, через кожні 12 год внутрішньом'язово вводили гідрокортизон (40 мг/кг). Тваринам контрольної групи замість розчину гормону вводили такий же об'єм 0,9 %-го розчину NaCl.

Матеріалом для досліджень були периферична кров і гемопоетична тканина кісткового мозку 10-добових поросят, яку виділяли зі стегнових кісток після декапітації та обезкровлення тварин. Кров отримували пункцією передньої порожнистої вени свиней. Мієлоїдні клітини кісткового мозку отримували за допомогою диференціального центрифугування суспензій гемопоетичних клітин у градієнті густини фікол-верографіну [21]. Популяції лейкоцитів виділяли за методом *Boyum* [15]. Лізис клітин проводили замороженням-розмороженням суспензій клітин у рідкому азоті. Для екстракції ферментів застосовували середовище, яке містило 25 ммоль/л тріс-HCl, 1 ммоль/л EDTA, pH 7,5. Середовище для екстракції гексокінази мало в своєму складі, крім згаданих компонентів, 30 ммоль/л меркаптоетанолу. Активність гексокінази (КФ 2.7.1.11), фосфофруктокінази (КФ 2.7.1.11), піруваткінази (КФ 2.7.1.40), лактатдегідрогенази (КФ 1.1.1.27), глюкозо-6-фосфат-дегідрогенази (КФ 1.1.1.49), ізоцитратдегідрогенази (НАДФ⁺) (КФ 1.1.1.42) визначали спектрофотометричними методами, які базуються на використанні спряжених систем окиснення чи відновлення нікотинамідних коферментів [6]. Для дослідження активності кіназ гліколізу використовували допоміжні ферменти: для визначення активності гексокінази – глюкозо-6-фосфатдегідрогеназу, фосфофруктокінази – фруктозобісфосфатальдолазу (КФ 4.1.2.13), гліцерол-3-фосфатдегідрогеназу (КФ 1.1.1.8) і тріозофосфатізомеразу (КФ 5.3.1.1); піруваткінази – лактатдегідрогеназу (КФ 1.1.1.27). Кінцеві концентрації компонентів інкубаційних сумішей, які застосовували при дослідженні активності ферментів були такими: для визначення активності гексокінази – $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л глюкози, $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л АТФ (фірми «Reanal»), $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л MgCl₂, $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л НАДФ⁺ (фірми «Reanal»), 0,3 МО глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (фірми «Fluka»); для визначення активності фосфофруктокінази – $7 \cdot 10^{-4}$ моль/л фруктозо-6-фосфату (фірми «Reanal»), $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л MgCl₂, $5 \cdot 10^{-5}$ моль/л НАДН (фірми «Reanal»), $7 \cdot 10^{-3}$ моль/л цистеїну, 0,3 МО фруктозобісфосфатальдолази (фірми «Sigma»), 0,3 МО тріозофосфатізомеразу (фірми «Sigma»), 0,3 МО гліцерол-3-фосфатдегідрогенази (НАД⁺) (фірми «Reanal»); для визначення активності піруваткінази – $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л фосфоенілпірувату (фірми «Reanal»), $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л KCl, $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л АДФ (фірми «Reanal»), $5 \cdot 10^{-5}$ НАДН (фірми «Reanal»), 0,3 МО лактатдегідрогенази (фірми «Ferak»); для визначення активності лактатдегідрогенази – $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л пірувату натрію, $5 \cdot 10^{-5}$ моль/л НАДН, $3 \cdot 10^{-3}$ моль/л MgCl₂; для визначення активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази – $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л глюкозо-6-фосфату (фірми «Reanal»), $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л НАДФ⁺, $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л MgCl₂; для визначення активності ізоцитратдегідрогенази: $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л НАДФ⁺, $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л MnCl₂, $15 \cdot 10^{-4}$ моль/л DL-ізоцитрату (фірми «Sigma»). Для дослідження актив-

ності цитохром с-оксидази (КФ 1.9.3.1) використовували спектрофотометричний метод, який базується на визначенні швидкості окиснення цим ферментом відновленого цитохрому с [18].

Активність супероксиддисмутази досліджували за визначенням ступеня інгібування ферментом процесу відновлення нітросинього тетразолію при наявності НАДН і феназинметасульфату [4, 7], глутатіонредуктази — за швидкістю відновлення глутатіону при участі НАДФН [3]. Інкубаційні суміші містили для визначення активності супероксиддисмутази: нітросиній тетразолій ($1,4 \cdot 10^{-3}$ моль/л), феназинметасульфат ($1,8 \cdot 10^{-6}$ моль/л), НАДН ($1 \cdot 10^{-6}$ моль/л), ЕДТА ($1 \cdot 10^{-6}$ моль/л), 1 мг желатину; для визначення активності глутатіонредуктази — глутатіон ($2 \cdot 10^{-3}$ моль/л), НАДФН ($2,5 \cdot 10^{-4}$ моль/л), ЕДТА ($8 \cdot 10^{-5}$ моль/л).

Активність калпаїнів і катепсинів визначали за інтенсивністю утворення кислоторозчинних продуктів ферментативного гідролізу білкових субстратів [13, 33]. Концентрацію глюкози, пірувату та лактату в клітинах досліджували ензиматичними методами із застосуванням глюкозооксидази та лактатдегідрогенази [6]. Отримані результати досліджень опрацьовували методами варіаційної статистики.

Результати та їх обговорення

Глюкокортикоїди відіграють значну роль у регуляції енергетичного метаболізму в організмі тварин і людини [7]. Результати даного дослідження, які стосуються впливу гідрокортизону на активність ферментів гліколізу, дегідрогеназ циклу трикарбонових кислот і пентозофосфатного шляху та мітохондріальної цитохром с-оксидази доводять, що цей гормон є важливим регулятором енергетичних процесів у лейкоцитах і у мієлоїдних клітинах гемопоетичної тканини тварин. Встановлено, що після тривалого введення гідрокортизону в досліджуваних типах клітин вірогідно зменшується активність ферментів, які каталізують початкові стадії гліколізу (табл. 1). При цьому швидкість гексокіназної реакції в мієлокаріоцитах і нейтрофільних гранулоцитах поросят знижується на 32 і 20 % відповідно ($P < 0,05$). Слід відмітити, що згідно з даними літератури, зниження інтенсивності фосфорилування гексоз під впливом глюкокортикоїдів спостерігається і в деяких інших клітинах організму [8]. Виявлений нами інгібуючий ефект гідрокортизону на активність гексокінази свідчить і про зниження інтенсивності транспорту глюкози в мієлоїдні клітини під впливом гормону, оскільки рівень фосфорилування цього моносахариду значною мірою детермінує швидкість його надходження з позаклітинного середовища [29]. Проте низький рівень утворення в гексокіназній реакції глюкозо-6-фосфату в клітинах тварин дослідної групи, очевидно, не лімітує інтенсивності подальших стадій гліколізу. Про це свідчить відносна стабільність каталітичної активності фосфофруктокінази (див. табл. 1).

Водночас у лімфоцитах крові поросят дослідної групи вірогідних змін каталітичної активності гексокінази не спостерігається, проте функціональна здатність фосфофруктокінази значно знижується після тривалого введення гідрокортизону (див. табл. 1). За таких умов імовірним є пригнічення під впливом гормону інтенсивності наступних стадій гліколізу, зокрема фос-

фогліцераткіназної реакції — однієї з АТФ-синтезуючих ланок цього процесу в клітинах. Зниження інтенсивності початкових стадій гліколізу, що спостерігається в досліджуваних популяціях клітин, очевидно, відображає тенденцію, яка є характерною і для інших клітин тварин у перинатальному періоді розвитку та полягає в пригніченні процесів катаболізму моносахаридів і активації процесів глюконеогенезу [19, 31].

Відомо, що метаболічна ефективність гормонів кори надниркових залоз у регуляції енергетичного обміну в організмі тварин значною мірою забезпечується їх стимулюючим впливом на процеси ліполізу та окиснення жирних кислот [8]. Інтенсифікація цих процесів у клітинах, як відомо, призводить до збільшення пулу ацетил-КоА і, відповідно, створює умови для посилення реакцій циклу трикарбонових кислот. На активацію цієї ланки енергетичного метаболізму вказує і підвищення функціональної активності ізоцитратдегідрогенази, виявлене нами в лейкоцитах і клітинах кісткового мозку після введення тваринам гідрокортизону (див. табл. 1). Разом з тим інтенсифікація перетворень субстратів у циклі Кребса та

Таблиця 1. Вплив гідрокортизону на активність ферментів енергетичного обміну в мієлокаріоцитах і лейкоцитах крові свиней ($M \pm m$; $n = 5$)

Фермент	Контрольна група	Дослідна група
Гексокіназа		
Мієлокаріоцити	16,50±1,20	11,23±0,24**
Нейтрофіли	7,74±0,41	6,14±0,32*
Лімфоцити	10,20±0,92	11,90±0,68
Фосфофруктокіназа		
Мієлокаріоцити	154,4±21,7	134,0±16,5
Нейтрофіли	133,2±5,16	151,5±11,2
Лімфоцити	282,5±18,3	201,2±16,3
Піруваткіназа		
Мієлокаріоцити	39,8±2,4	65,89±4,58**
Нейтрофіли	25,4±1,3	72,35±8,31**
Лімфоцити	33,0±1,9	119,4±12,4***
Лактатдегідрогеназа		
Мієлокаріоцити	78,5±6,8	37,7±2,0**
Нейтрофіли	166,5±10,0	76,3±5,6***
Лімфоцити	124,3±12,9	125,4±7,6
Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа		
Мієлокаріоцити	64,9±4,6	28,5±1,8***
Нейтрофіли	8,15±0,68	2,32±0,11***
НАДФ-ізоцитратдегідрогеназа		
Мієлокаріоцити	4,78±0,21	7,30±0,65**
Нейтрофіли	3,80±0,46	6,98±0,24***
Лімфоцити	9,42±0,60	14,22±0,78**
Цитохромоксидаза		
Нейтрофіли	4,35±0,51	5,56±0,54
Лімфоцити	10,08±0,71	6,98±0,83*
Глюкоза		
Мієлокаріоцити	1,98±0,11	3,35±0,26**
Лактат		
Мієлокаріоцити	0,38±0,016	0,087±0,008***
Піруват		
Мієлокаріоцити	36,67±1,97	48,10±0,85**

Примітка. Тут і в табл. 2 і 3 * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$.

нагромадження в клітинах цитрату — негативного модулятора фосфофруктокінази — може відігравати значну роль у механізмах зниження швидкості гліколізу на рівні фосфофруктокіназної реакції.

При аналізі результатів досліджень впливу гідрокортизону на функціональну активність інших ферментів енергетичного обміну має значення підвищення інтенсивності піруваткіназної реакції, більш виразне в лімфоцитах порівняно з мієлоїдними клітинами і нейтрофілами (див. табл. 1). За умов зниження швидкості початкових стадій гліколізу після введення тваринам гідрокортизону активація піруваткінази в клітинах, очевидно, свідчить про інтенсифікацію використання в гліколітичних реакціях продуктів розщеплення ліпідних сполук, зокрема гліцерину, що після метаболічних перетворень може поповнювати пул гліцеральдегід-3-фосфату. Згідно з отриманими результатами, підвищення швидкості піруваткіназної реакції в лімфоцитах відбувається на фоні незмінної активності лактатдегідрогенази, а в гранулоцитах і їх попередниках — одночасно з пригніченням кінцевої ланки гліколізу (див. табл. 1).

При цьому в мієлокаріоцитах тварин дослідної групи значно зменшується вміст лактату та збільшується концентрація пірувату (див. табл. 1). Слід відмітити, що значне збільшення співвідношення каталітичної активності піруваткінази та ізоцитратдегідрогенази в лейкоцитах поросят після ін'єкцій гормону свідчить про те, що рівень утворення пірувату значно переважає над швидкістю його утилізації в циклі трикарбонових кислот. Очевидно, це зумовлюється пригніченням процесу окиснювального декарбоксілювання пірувату під впливом глюкокортикоїдів [8]. Разом з тим таке явище може доводити активацію інших шляхів метаболізму цього субстрату після введення гідрокортизону. Зокрема, ймовірно є інтенсифікація використання пірувату в реакціях гліуконеогенезу, що призводить до збільшення концентрації глюкози в лейкоцитах додільно до того, як це відбувається в мієлокаріоцитах кісткового мозку тварин дослідної групи (див. табл. 1).

При дослідженні функціональної активності цитохром с-оксидази — каталізатора останньої ланки ланцюга окисно-відновних процесів у клітинах встановлено значне зниження активності ферменту в циркулюючих лімфоцитах при відносно стабільній швидкості цитохром с-оксидазної реакції в нейтрофільних гранулоцитах після введення гідрокортизону (див. табл. 1). Це може зумовлюватися зниженою чутливістю ферменту гранулоцитів до дії регуляторних факторів в зв'язку з меншим функціональним значенням у цих клітинах системи клітинного дихання порівняно з лімфоцитами [30]. Водночас у нейтрофілах та їх попередниках у кістковому мозку поросят дослідної групи різко знижується активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази — ферменту, що метаболічно пов'язаний з функціональним станом системи антиоксидантного захисту клітин (див. табл. 1).

Очевидно, низький рівень утворення в клітинах НАДФН- кофактора глутатіонредуктази — є одним з чинників, які зумовлюють зменшення активності ферментів глутатіонової системи, що спостерігається в лімфоцитах і нейтрофільних гранулоцитах тварин після тривалого введення гідрокортизону. Разом з тим у клітинах усіх досліджуваних популяцій вірогідно знижується активність супероксиддисмутази (табл. 2).

Встановлено, що, крім процесів енергетичного обміну, іншою чутливою до впливу гідрокортизону ділянкою метаболізму в лейкоцитах і мієлоїдних клітинах кісткового мозку є протеолітична система. При цьому виявлено, що дія гормону є неоднозначною відносно функціональної здатності нейтральних протеїназ калпаїнів і катепсинів — протеолітичних ферментів лізосом (табл. 3). Так, після ін'єкцій гормону активність калпаїнів знижується в усіх досліджуваних клітинах, а катепсинів — підвищується в гранулоцитах і лімфоцитах крові тварин.

Відомо, що протеолітичні ферменти, які належать до цих класів, відіграють різну роль у метаболізмі і функціональній активності клітин [13, 23]. Встановлено участь калпаїнів у механізмах внутрішньоклітинної трансдукції сигналів ростових факторів та інших біорегуляторів [25, 28]. В зв'язку з цим інгібуючий вплив глюкокортикоїдів, зокрема гідрокортизону, на процеси мієлопоезу та функції лейкоцитів значною мірою може опосередковуватися пригніченням активності цих регуляторних ферментів у клітинах білої крові та їх попередниках в органах гемопоезу [25].

Таким чином, експериментально встановлено участь гідрокортизону в регуляції окремих ланок метаболізму в лейкоцитах і в їх попередниках у кістковому мозку поросят. Згідно з результатами досліджень, після тривалого введення гормону в мієлокаріюцитах, нейтрофільних гранулоцитах і лімфоцитах тварин знижується швидкість фосфорилування гексоз та активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази. Разом з тим активація реакції піруваткінази, що спостерігається в клітинах при низькій інтенсивності початкових стадій гліколізу та пентозофосфатного шляху може свідчити про залучення в процес гліколітичного розщеплення інтермедіатів ліпідного

Таблиця 2. Вплив гідрокортизону на активність ферментів антиоксидантної системи в мієлокаріюцитах і лейкоцитах крові свиней ($M \pm m$; $n = 5$)

Фермент	Контрольна група	Дослідна група
Супероксиддисмутаза		
Мієлокаріюцити	18,25±1,38	7,31±0,88***
Нейтрофіли	13,30±0,65	8,80±1,06*
Лімфоцити	16,28±0,93	6,66±0,56***
Глутатіонредуктаза		
Мієлокаріюцити	29,28±1,85	25,81±1,45
Нейтрофіли	18,02±1,92	11,76±1,23*
Лімфоцити	25,70±0,85	15,48±0,96***

Таблиця 3. Вплив гідрокортизону на активність протеолітичних ферментів нг субстрату · хв⁻¹ · мг білка⁻¹ в мієлокаріюцитах і лейкоцитах крові свиней ($M \pm m$; $n = 5$)

Фермент	Контрольна група	Дослідна група
Катепсини		
Мієлокаріюцити	12,84±1,50	14,1±1,08
Нейтрофіли	4,20±0,31	6,93±0,72*
Лімфоцити	3,00±0,15	8,60±1,10**
Калпаїни		
Мієлокаріюцити	15,60±0,91	11,58±1,30*
Нейтрофіли	10,28±0,79	6,95±0,87*
Лімфоцити	13,51±0,76	5,25±0,56***

метаболізму. Очевидно, тому енергетична ефективність гліколізу в клітинах після введення гідрокортизону не знижується. В зв'язку з цим нейтрофільні гранулоцити, ймовірно, зберігають здатність до міграції — процесу, що забезпечується енергією, головним чином, внаслідок гліколітичного розщеплення субстратів [29]. Підтвердженням такого припущення можуть бути результати, отримані нами в попередніх дослідженнях щодо інтенсивного переміщення окремих популяцій мієлоїдних клітин з кісткового мозку в периферичну кров після ін'єкцій тваринам гідрокортизону, а також дані досліджень інших авторів, які свідчать про стимулюючий вплив глюкокортикоїдів на вивільнення нейтрофілів з пристінкового пулу в кровоносних судинах [1]. Водночас здатність нейтрофільних гранулоцитів до бактеріцидної дії після введення гідрокортизону, очевидно, знижується. Це зумовлюється тим, що зменшення інтенсивності відновлення НАДФ внаслідок інгібування реакцій пентозофосфатного шунту призводить до зниження функціональної активності НАДФН-оксидази — каталізатора утворення активних форм кисневих молекул при фагоцитозі [30].

Слід відмітити, проте, що активність цитохром с-оксидази — каталізатора кінцевого етапу окиснювального катаболізму субстратів у нейтрофільних гранулоцитах вірогідно не змінюється, а в лімфоцитах різко знижується після введення тваринам гідрокортизону. Різноспрямований вплив гормону на активність цього ферменту, а також на активність каталізаторів інших реакцій у клітинах мієлоїдного ряду та лімфоцитах може пояснюватися тим, що дія гідрокортизону, очевидно, опосередковується його участю в регуляції синтезу, секреції та рецепції клітинами інших біорегуляторів. Нами, зокрема, встановлено, що після введення гідрокортизону в плазмі тварин значно змінюється концентрація гормонів щитовидної залози й інсуліну [5]. Водночас глюкокортикоїди стимулюють процеси утворення і рецепції клітинами адреналіну [22, 27], який неоднозначно впливає на метаболізм мієлоїдних і лімфоїдних клітин, індукуючи в лімфоцитах процеси апоптозу [24]. Оскільки лімфоцити, відповідно до даних літератури, мають здатність до синтезу катехоламінів [14, 23], то ці гормони, очевидно, можуть діяти як аутокринні регуляторні чинники, опосередковуючи вплив гідрокортизону на функціональну активність клітин.

Разом з тим після ін'єкцій тваринам високих доз гідрокортизону в лейкоцитах і клітинах кісткового мозку спостерігається пригнічення функціональної активності ферментів антиоксидантного захисту та зменшення активності кальційзалежних протеїназ (калпаїнів). Це може зумовлювати дестабілізацію мембранних структур клітин, порушення функцій рецепторів та зниження чутливості клітин до дії гемопоетичних факторів росту та хемоаттрактантів [25, 28].

Таким чином, підсумовуючи безпосередні та опосередковані ефекти, які спостерігаються в лейкоцитах і мієлоїдних клітинах кісткового мозку після введення тваринам гідрокортизону, можна зробити висновок про неоднозначність впливу цього гормону на окремі ланки метаболізму в клітинах мієлоїдного ряду і лімфоцитах. Разом з тим характер гемопоезу у неонатальному періоді розвитку може значною мірою зумовлюватися високим вмістом глюкокортикоїдів в організмі ссавців при народженні [5, 11, 26].

H.L. Antonyak, V.V. Snitynski, R.Y. Iskra, N.O. Babych

**THE INFLUENCE OF CORTISOL ON SEVERAL LINKS
OF METABOLISM IN MYELOID CELLS AND LEUCOCYTES
OF PIGLETS**

The influence of cortisol on the activity of enzymes that catalyze several stages of energy metabolism, proteolysis and antioxidant system in the bone marrow myeloid cells, neutrophils and lymphocytes of 7-10-day aged piglets was investigated. It was established that durable hormone administration (40 mg per kg body weight every 12 hours during 3 days) caused the decrease in the initial stages of glycolysis and pentose phosphate way intensities, as well as inhibition of cytochrome-c oxidase and antioxidant enzymes activities in the cells of mentioned populations. Such effects of cortisol on the intracellular metabolism may represent the important link in the mechanisms of glucocorticoid inhibition of myeloid cells and circulating leucocytes functional activities.

Institute of Agriculture and Animal Biology, Lviv

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Алмазов В.А., Афанасьев Б.В., Зарицкий А.Ю., Мамаев Н.Н. Физиология лейкоцитов человека. — Л.: Наука, 1979. — 232 с.
2. Антоняк Г.Л. Динаміка клітинних популяцій в кістковому мозку і крові свиней в неонатальному періоді розвитку // Наук.-техн. бюлетень Ін-ту фізіології і біохімії тварин. — 1997. — **19**, № 1. — С.8-12.
3. Антоняк Г.Л. Визначення активності глутатіонредуктази. — В кн.: Методики досліджень з фізіології і біохімії сільськогосподарських тварин. — Львів, 1998. — С. 91.
4. Антоняк Г.Л., Бучко О.М. Визначення активності супероксиддисмутази. — В кн.: Методики досліджень з фізіології і біохімії сільськогосподарських тварин. — Львів, 1998. — С. 89-90.
5. Антоняк Г.Л., Снітинський В.В., Данчук В.В. та ін. Вплив екзогенних гормонів на функціональну активність ендокринних залоз поросят у неонатальному періоді онтогенезу // Вісн. Білоцерк. Аграр. ун-ту. — 1998. — **5**, № 1. — С.150-152.
6. Астауров Б.Л. Методы биологии развития. — М., 1974. — С.346-433.
7. Дубинина Е.Е., Сальникова Л.А., Ефимова Л.Ф. Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы крови человека // Лаб. дело. — 1983. — № 10. — С. 30-33.
8. Коркач В.И. Роль АКТГ и глюкокортикоидов в регуляции энергетического обмена. — К.: Здоров'я, 1979. — 152 с.
9. Натан Д.Г., Зифф К.А. Регуляция кроветворения // Гематология и трансфузиология. — 1994. — **39**, № 2. — С.3-10.
10. Панин Л.Е., Русских Г.С., Атучина Н.В., Третьякова Т.А. О кооперативном эффекте гидрокортизона, адреналина и липопротеидов высокой плотности в регуляции активности множественных форм гексокиназы в печени // Вопр. мед. химии. — 1993. — **39**, № 1. — С.13-15.
11. Снітинський В.В., Данчук В.В., Куровець В.О. Вплив добавок тваринного жиру до раціону свиноматок на концентрацію деяких гормонів в крові їх поросят // Фізіол. журн. — 1994. — **40**, № 1. — С.34-39.
12. *Современные методы в биохимии* / Под ред. Н.В. Ореховича. М.: Медицина, 1968. — С. 48.
13. Сологуб Л.І., Пашковська І.С., Антоняк Г.Л. Протеази клітин та їх функції. — К.: Наук. думка, 1992. — 195 с.
14. Bergquist J., Tarkowski A., Ekman R., Erving A. Discovery of endogenous catecholamines in lymphocytes and evidence for catecholamine regulation of lymphocyte

- function via an autorene loop // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1994. — **91**, № 26. — P. 12912-12916.
15. *Boyum A.A.* A one- stage procedure for isolation of granulocytes and lymphocytes from human blood // Scand. J. Clin. Lab. Invest. — 1968. — **21**, Suppl., 97. — P.51-76.
 16. *Cetin M., Hicsonmez G., Tuncer A.M. et al.* The effect of short-course high-dose cortocosteroid therapy on peripheral blood CD34+ progenitor cells in children with acute leukemia // Exp. Nematol. — 1996. — **24**. — P. 1191-1194.
 17. *Coffey R.G., Hadden J.W.* Neurotransmitters, hormones and cyclic nucleotides in lymphocyte regulation // Fed. Proc. — 1985. — **44**, № 1, Pt.1. — P. 112-117.
 18. *Cooperstein S.J., Lazarow A.* A microspectrophotometric method for the determination of cytochrome- c oxidase // J. Biol. Chem. — 1951. — **189**. — P.665-670.
 19. *Fowden A.L., Mijovic J., Silver M.* The effects of cortisol on hepatic and renal gluconeogenic enzyme activities in the sheep fetus during late gestation // J. Endocrinol. — 1993. — **137**. — P. 213-222.
 20. *Gupta V., Thompson E.B., Stock-Novak D. et al.* Efficacy of prednisone in refractory multiple myeloma and measurement of glucocorticoid receptors. A Southwest Oncology Group Study // Invest. New Drugs. — 1994. — **12**, № 2. — P.121-128.
 21. *Harrison F.L., Beswick T.M., Chesterton C.J.* Separation of haemopoietic cells for biochemical investigation // Biochem. J. — 1981. — **194**. — P.789-796.
 22. *Immune Modulation Agents and Their Mechanisms* / Eds. R.L. Fenichel, M.A.Chirigos. — Marcel Dekker, Inc. New York-Basel, 1984. — 678 p.
 23. *MacDonald R.G., Martin T.P., Cidlowski J. A.* Glucocorticoids stimulate protein degradation in lymphocytes: a possible mechanism of steroid-induced cell death. // Endocrinology. — 1980. — **107**. — P.1512-1524
 24. *Meier C.A.* Mechanisms of immunosuppression by glucocorticoids // Europ. J. Endocrinology. — 1996. — **134**. — P. 50.
 25. *Melloni E., Pontremoli S., Michetti M. et al.* The involvement of calpain in the activation of protein kinase C in neutrophils stimulated by phorbol myristic acid // J. Biol. Chem. — 1986. — **261**, № 9. — P.4101-4105.
 26. *Perinatal Physiology* /Ed. U.Stave. — Plenum Medical Book Company, New York — London, 1978. — 851 p.
 27. *Sano Y., Begley M., Watt G., Towhley R.* Corticosteroid increases leukocyte beta adrenergic receptors in vivo // J. Allergy Clin. Immunol. — 1980. — **65**. — P. 223-224.
 28. *Sasaki M., Kunimatsu M., Ohkubo I.* Role of calpains and kininogens in inflammation // Acta Biol. Hung. — 1991. — **42**, № 1-3. — P.231-242.
 29. *Strauss R.G., Mauer A.M.* Formed elements of human blood // Perinatal physiology. — Ed. U.Stave. — Plenum Medical Book Company. New York-London, 1978. — P.199-213.
 30. *Thelen M., Dewald B., Baggiolini M.* Neutrophil signal transduction and activation of the respiratory burst // Physiol. Rev. — 1993. — **73**, № 4. — P. 797-812.
 31. *Townsend S.F., Rudolph C.D., Rudolph A.M.* Cortisol induced perinatal hepatic gluconeogenesis in the lamb // J.Dev. Physiol. (Oxf). — 1991. — **16**. — P. 71-79.
 32. *Wang K.K.W., Villalobo A., Roufogalis B.D.* Activation of the Ca²⁺-ATPase of human erythrocyte membrane by an endogenous Ca²⁺-dependent neutral protease // Arch. Biochem. Biophys. — 1988. — **260**, № 2. — P. 696-704.
 33. *Welham M.J., Bone H., Levings M. et al.* Insulin receptor substrate-2 is the major 170-kDa protein phosphorylated on tyrosine in response to cytokines in murine lymphohematopoietic cells // J. Biol. Chem. — 1997. — **272**, № 2. — P. 1377-1381.

Ін-т землеробства і біології тварин
УААН, Львів

Матеріал надійшов
до редакції 11.08.99